



### Milho *Bt*: avaliação preliminar da resistência de híbridos comerciais à lagarta-do-cartucho, *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797)

Simone M. Mendes<sup>1</sup>  
Rosângela C. Marucci<sup>2,3</sup>,  
Silvino G. Moreira<sup>2</sup>  
José M. Waquil<sup>1</sup>

#### Inovação no MIP (Manejo Integrado de Pragas)

A safra de grãos de 2008/2009 pode ser considerada um marco na produção de milho no Brasil, uma vez que foi autorizada, pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, a comercialização de sementes de milho geneticamente modificado com o gene *Bt*. Assim, pela primeira vez os agricultores brasileiros podem usufruir dessa tecnologia, que visa auxiliar o manejo integrado de pragas na cultura do milho, cuja principal espécie-praga é a lagarta-do-cartucho do milho (LCM) *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Figura 1). Essa praga se alimenta do cartucho da planta e pode causar prejuízos da ordem de 37%.



Figura 1. Sítio de alimentação de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) no cartucho do milho

#### O milho *Bt*

O milho geneticamente modificado com o gene *Bt* expressa em seus tecidos uma toxina (proteína)

<sup>1</sup>Eng. Agr., Doutor, Entomologia. Embrapa Milho e Sorgo, C. Postal 151, 35701-970 Sete Lagoas, MG. simone@cnpmis.embrapa.br

<sup>2</sup>Consultores da ReHAgro, Av. Uruguai, 620, 5º andar, 30310-300, Belo Horizonte, MG

<sup>3</sup>Prof. do Unifem, Av. Castelo Branco, 2.765, 35701-242, Sete Lagoas, MG

<sup>4</sup>Eng. Agr., PhD, Entomologia. Embrapa Milho e Sorgo, C. Postal 151, 35701-970 Sete Lagoas, MG. waquil@cnpmis.embrapa.br

que tem atividade, principalmente, sobre as lagartas. *Bacillus thuringiensis* Berliner (*Bt*) é uma bactéria que produz a d-endotoxina, que acumula e forma cristais no interior da larva e, por isso, é denominada Cry. Essa toxina tem ação tóxica específica para larvas de insetos de algumas ordens, como Lepidóptera, Díptera e Coleóptera. A toxicidade dessas proteínas tem alta especificidade para cada grupo de inseto. Essa bactéria vem sendo utilizada desde 1920 como bioinseticida na França e, hoje, é utilizada em vários países, sem causar problemas aos produtores, aos consumidores ou ao ambiente.

### Toxinas do *Bt*

As toxinas *Bt* são sintetizadas como protoxinas, que não possuem atividade tóxica. A toxina só se torna ativa quando ingerida pelo inseto porque, devido às condições alcalinas (pH acima de 8) do tubo digestivo, ocorre a quebra da proteína, liberando o núcleo ativo. Este se liga a receptores específicos na parede intestinal do inseto, desencadeando o processo, que começa pela inibição da ingestão e da absorção dos alimentos, o que ocasiona, com a evolução dos sintomas, a ruptura das células da parede do tubo digestivo, provocando sua morte.

Ressalta-se que essa toxina é inócua a humanos e a vertebrados, que possuem o pH intestinal ácido, em que a proteína é rapidamente degradada. Com o avanço da biotecnologia, o gene *Bt*, que determina a expressão da toxina de *B. thuringiensis*, foi clonado e introduzido em plantas de milho, dando origem ao milho *Bt*, conferindo resistência às espécies de Lepidoptera. No Brasil, a liberação do cultivo comercial ocorreu em fevereiro de 2008, sendo liberado apenas eventos contendo a toxina Cry 1A(b).

### A eficiência do milho *Bt* no controle da lagarta-do-cartucho

A eficiência do milho *Bt* contra a LCM tem sido avaliada sob diferentes circunstâncias. A LCM, ao se alimentar de milho *Bt* contendo a toxina Cry 1

A(b), pode ter seu ciclo biológico alterado, com maior mortalidade de larvas, menor biomassa e menor peso de pupas (Fernandes, 2003).

Além disso, é importante ressaltar que a atividade da toxina *Bt* também pode ser afetada pela interação com o genótipo no qual o gene foi incorporado, ou seja, a mesma toxina Cry 1A(b) presente em híbridos diferentes pode apresentar variabilidade frente à infestação com a LCM (Waquil, 2002).

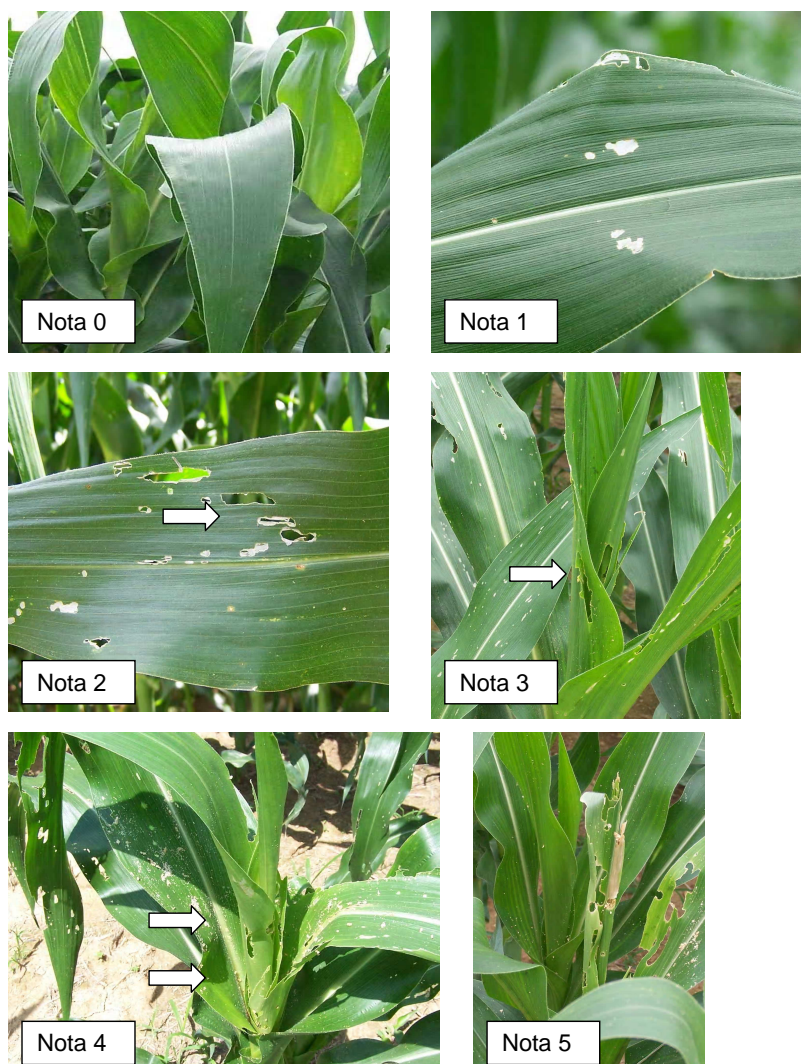
### Avaliação da resistência do milho *Bt* à lagarta-do-cartucho (LCM) em parcelas experimentais

A incidência e os danos da LCM foram monitorados em milho *Bt* e em milho não *Bt*, em parcelas experimentais, sob infestação artificial na Embrapa Milho e Sorgo, em Sete Lagoas-MG. Foram utilizados dois híbridos comerciais, o AG 9010 e o DKB 390, nas versões *Bt* e não *Bt*. A infestação artificial das plantas foi realizada aos 20 dias após a germinação (estádio V6), aproximadamente, 70 larvas recém-eclodidas.

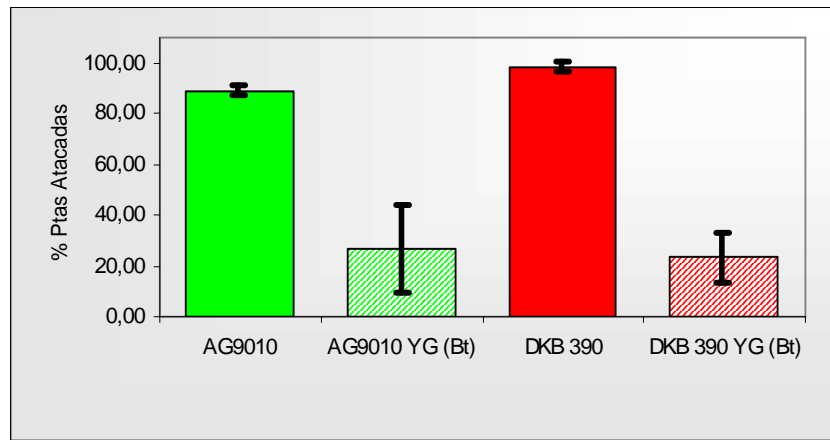
Os danos causados pela infestação foram avaliados, segundo a escala de notas apresentada na Tabela 1 e ilustrada na Figura 2, 15 dias após a infestação, quando as plantas estavam no estágio V11. Os resultados indicaram diferença significativa entre as versões *Bt* e não *Bt* para a porcentagem de plantas infestadas. Por outro lado, não se observou diferença significativa entre os híbridos quanto à incidência da LCM (Figura 3).

**Tabela 1.** Escala (0 a 5) para avaliação dos danos causados por *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) no cartucho do milho

Nota	Descrição do dano
0	Planta sem dano
1	Planta com folhas raspadas
2	Planta com folhas furadas
3	Planta com lesão nas folhas e no cartucho
4	Planta com o cartucho destruído
5	Planta com muitas folhas e cartucho totalmente destruído



**Figura 2.** Avaliação da intensidade de danos causados pela infestação de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) com escala de danos (0 a 5) (Tabela 1) em lavouras comerciais de milho *Bt* e não *Bt* do híbrido DKB 390 ( $\pm$  Intervalo de confiança  $P = 0,05$ ) em Inhaúma-MG no estágio vegetativo V10-V11, novembro de 2008



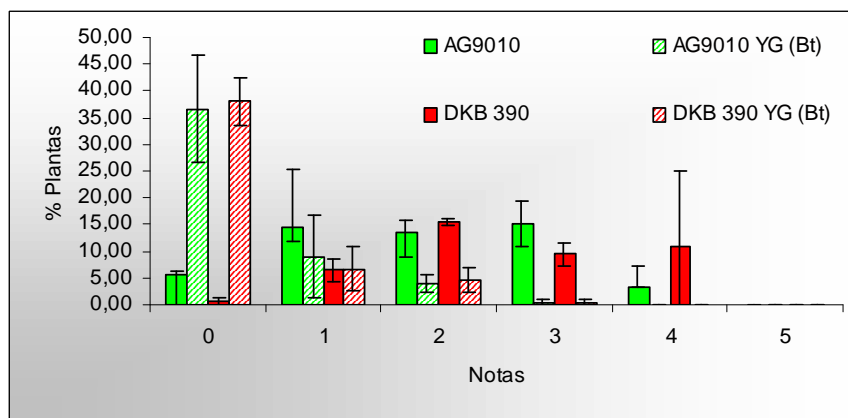
**Figura 3.** Incidência ( $\pm$  Intervalo de confiança  $P = 0,05$ ) da lagarta-do-cartucho em dois híbridos de milho *Bt* e seus respectivos isogênicos não *Bt* em condições experimentais em Sete Lagoas-MG

O resultado da avaliação dos danos causados pela LCM, nas duas versões dos dois híbridos, comprovou as diferenças observadas anteriormente. Nas versões *Bt* de ambos os híbridos, predominaram plantas com nota zero e baixa frequência de plantas com nota um ou dois. Por outro lado, nas versões não *Bt* desses híbridos predominaram plantas com notas três ou quatro e baixíssima frequência de plantas com nota zero (Figura 4).

Portanto, nas plantas da versão *Bt*, mesmo onde há sobrevivência inicial das lagartas, o dano não evoluiu ao seu nível de prejuízo significativo, quando ultrapassa a nota três.

### Avaliação da resistência do milho *Bt* à lagarta-do-cartucho (LCM) a campo

A incidência e os danos da LCM em milho *Bt* e em milho não *Bt* foram monitorados em lavoura comercial na fazenda São João, município de Inhaúma, na região Central de Minas Gerais. A área total de milho cultivado na fazenda São João é de aproximadamente 420 ha e somente 10% da área está ocupada com milho *Bt*. A incidência foi baseada na porcentagem de plantas com sintoma de infestação e os danos estimados com base na escala visual de notas apresentada na Tabela 1 e ilustrada na Figura 2.



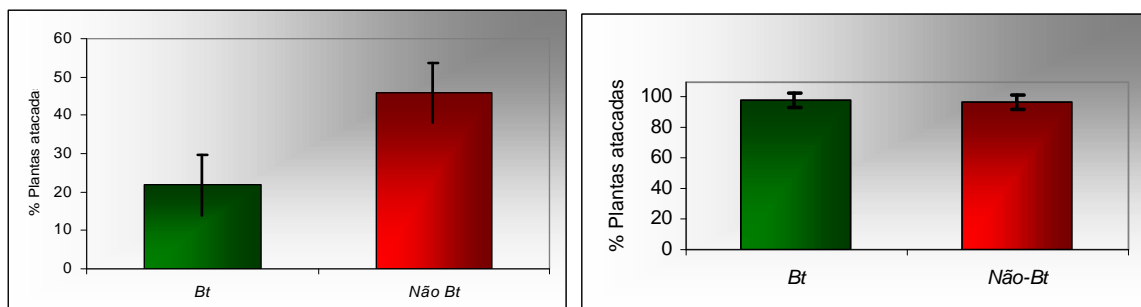
**Figura 4.** Avaliação de danos ( $\pm$  Intervalo de confiança  $P = 0,05$ ) da lagarta-do-cartucho através de escala de notas em dois híbridos de milho *Bt* e seus respectivos isogênicos não *Bt* em condições experimentais em Sete Lagoas-MG

Plantas do DKB 390, nos estádios vegetativo V5-V6 (outubro de 2008, Fig. 5A) e estágio vegetativo V10-V11 (novembro de 2008, Fig. 5B), foram avaliadas segundo a escala de danos apresentada na Tabela 1 e ilustrada na Figura 2. Foram observados insetos sobrevivendo no milho-*Bt*; entretanto, cerca de 65% das lagartas coletadas e levadas para o laboratório morreram.

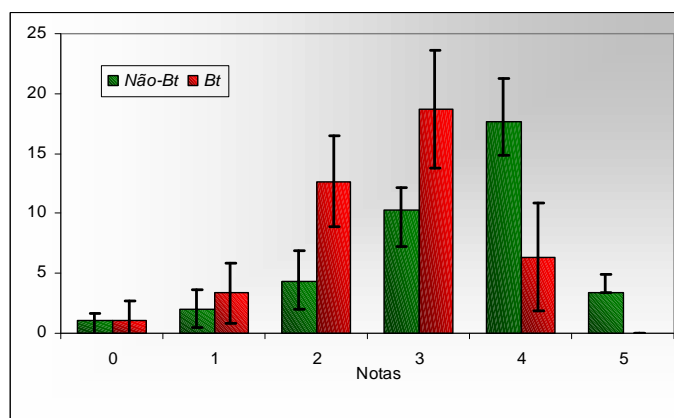
Nas avaliações das plantas, realizadas nos estádios V5/V6, foi observada diferença significativa entre as versões *Bt* e não *Bt* para a incidência da LCM (Figura 5-A). Esse fato indica a contribuição que o milho *Bt* pode dar ao manejo de pragas, reduzindo a susceptibilidade do milho

à LCM, contribuindo para a redução dos prejuízos causados pelos seus danos.

Com o desenvolvimento das plantas (estádios V10/V11), houve um nivelamento do porcentual de plantas com sintomas de danos nas versões *Bt* e não *Bt* (Figura 5B). Entretanto, dois aspectos importantes devem ser considerados: a) na área cultivada com o milho isogênico não *Bt*, foram realizadas quatro pulverizações visando o controle da LCM; b) a avaliação da intensidade de danos, através da escala visual de notas (Figura 6) nos isogênicos *Bt* (Figura 7) e não *Bt* (Figura 8), indicou danos mais severos no isogênico não *Bt*.



**Figura 5** Incidência ( $\pm$  Intervalo de confiança  $P = 0,05$ ) da lagarta-do-cartucho do milho em plantas de milho *Bt* (DKB 390) e seu respectivo isogênico não *Bt* avaliada com base nos sintomas de danos em Inhaúma-MG



**Figura 6.** Avaliação de danos ( $\pm$  Intervalo de confiança  $P = 0,05$ ) da lagarta-do-cartucho do milho através de escala de notas em plantas de milho *Bt* (DKB 390) e seu respectivo isogênico não *Bt* com base na escala de notas em Inhaúma-MG



**Figura 7.** Dano foliar causado por *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) em milho não *Bt* (DKB 390) entre os estádios V7 e V8 em Inhaúma-MG



**Figura 8.** Dano foliar causado por *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) em milho *Bt* (DKB 390) entre os estádios V7 e V8 em Inhaúma-MG

### **Considerações sobre o uso do milho *Bt***

Com base nesses dados preliminares, obtidos tanto nas parcelas experimentais como na área comercial, os resultados indicam que o milho *Bt* reduz significativamente os danos causados pela lagarta-do-cartucho no milho. Os resultados

obtidos na Fazenda São João permitem concluir que, pelo menos no híbrido DKB 390 (MON 810), a toxina *Bt* oferece proteção equivalente ou superior à realização de quatro pulverizações com inseticidas.

Além do benefício direto, há mais algumas vantagens relacionadas ao cultivo do milho *Bt*: redução no uso de inseticidas e no consumo de água; menor exposição do aplicador e dos inimigos naturais aos produtos tóxicos; facilidade de logística na realização dos tratamentos culturais da lavoura; redução nos riscos de contaminação do solo e da água; e outras.

Uma preocupação com o uso intensivo do milho *Bt* está na possibilidade da seleção de biótipos de insetos resistentes à toxina *Bt*, pois já existem

várias referências da lagarta-do-cartucho resistente a diferentes grupos de inseticidas. Dessa forma, deve-se recorrer a estratégias que reduzam essas chances. Nesse sentido, a CTNBio (Comissão Técnica Nacional de Biossegurança) exige a utilização de áreas de refúgio pelos agricultores que queiram utilizar a tecnologia *Bt*.

### Área de refúgio

O objetivo das áreas de refúgio é permitir a reprodução de insetos suscetíveis à toxina *Bt* para posterior cruzamento com os prováveis insetos resistentes desenvolvidos na área cultivada com milho *Bt*. Tais cruzamentos retardarão a seleção de população de indivíduos resistentes. A exigência feita pela legislação é a utilização de 10% da área total cultivada com milho *Bt* de um cultivar de milho não *Bt* de iguais porte e ciclo do milho *Bt*.

Segundo as normas, não existem restrições quanto à pulverização de inseticidas nas áreas de refúgio, desde que não sejam utilizados bioinseticidas à base de *Bacillus thuringiensis*. Contudo, a premissa básica para a prevenção do aparecimento de resistentes é que a área de refúgio permita a criação de um número suficiente de insetos suscetíveis e que esses se acasalem com os insetos sobreviventes resistentes das áreas de milho *Bt*.

### Considerações finais

Embora a tecnologia do milho *Bt* seja revolucionária no controle da lagarta-do-cartucho, produzindo proteção às plantas equivalente a quatro aplicações de inseticidas de primeira linha, a sua utilização deve ser acompanhada de um rigoroso monitoramento e de estratégias para o manejo de possíveis raças da LCM resistente à toxina do *Bt*.

Entre essas estratégias, destaca-se a utilização de áreas de refúgio pelos produtores. Além disso, fatores como a intensidade do dano em lavouras de milho *Bt* precisam ser estudados com o intuito de fornecer mais subsídios na utilização da tecnologia *Bt* como ferramenta para melhorar a eficácia do MIP na cultura do milho.

### Referências bibliográficas

- DALE, P. J.; CARKE, B.; FONTE, E. M. G. O potencial de impacto ambiental de plantas transgênicas. In: PIRES, C. S. S.; FONTES, E. M. G.; SUJII, E. R. (Ed.). **Impacto ecológico de plantas geneticamente modificadas: o algodão resistente a insetos como estudo de caso**. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia: CNPq, 2003. p. 13-48
- FERNANDES, O. D. Efeito do milho geneticamente modificado (MON 810) em *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) e no parasitóide de ovos *Trichogramma* spp. 164 f. Tese (Doutorado em Entomologia) - Departamento de Entomologia, ESALQ, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2003
- GILL, S. S.; COWLES E. A.; PIETRANTONIO P. V. The Mode of Action of *Bacillus thuringiensis* Endotoxins. **Annual Review of Entomology**, Palo Alto, v. 37, p. 615-636, 1992

WAQUIL, J. M.; VILELLA, F. M. F.; FOSTER, J. E.  
Resistência do milho (*Zea mays* L.) transgênico  
(*Bt*) à lagarta-do-cartucho, *Spodoptera frugiperda*  
(Smith) (Lepidóptera: Noctuidae). **Revista  
Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, v. 1,  
n. 3, p. 1-11, 2002

WAQUIL, J. M. Manejo de resistência em insetos-  
praga. In: PIRES, C. S. S.; FONTES, E. M. G.;  
SUJII, E. R. (Ed.). **Impacto ecológico de plantas  
geneticamente modificadas**: o algodão  
resistente a insetos como estudo de caso.  
Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e  
Biotecnologia: CNPq, 2003. p. 135-162

**Comunicado  
Técnico, 157**

Ministério da Agricultura,  
Pecuária e Abastecimento



Exemplares desta edição podem ser adquiridos na:  
**Embrapa Milho e Sorgo**  
**Endereço:** Rod. MG 424 Km 45 Caixa Postal 151  
CEP 35701-970 Sete Lagoas, MG  
**Fone:** (31) 3027 1100  
**Fax:** (31) 3027 1188  
**E-mail:** sac@cnpmis.embrapa.br

**1ª edição**  
1ª impressão (2008): 200 exemplares

**Comitê de  
publicações**

**Presidente:** Antônio Álvaro Corsetti Purcino  
**Secretário-Executivo:** Paulo César Magalhães  
**Membros:** Andrea Almeida Carneiro, Carlos Roberto  
Casela, Cláudia T. Guimarães, Clenio Araujo, Flávia  
França Teixeira, Jurandir Vieira Magalhães

**Expediente**

**Revisão de texto:** Clenio Araujo  
**Editoração eletrônica:** Tânia Mara Assunção Barbosa